

## (12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
31 décembre 2003 (31.12.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2004/000286 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : **A61K 9/50**, 31/40, 31/401, 38/55

(74) Représentant commun : LES LABORATOIRES SERVIER; 12, place de la Défense, F-92415 Courbevoie Cedex (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2003/001931

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international : 24 juin 2003 (24.06.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(30) Données relatives à la priorité :  
02/07778 24 juin 2002 (24.06.2002) FR

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*) : LES LABORATOIRES SERVIER [FR/FR]; 12, place de la Défense, F-92415 Courbevoie Cedex (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : HUET DE BAROCHEZ, Bruno [FR/FR]; 38, rue des grands champs, F-45140 Ingre (FR). WUTRICH, Patrick [CH/FR]; 15, rue Marcelin Berthelot, F-45000 Orleans (FR). LEGRAND, Valérie [FR/FR]; 25, rue d'Yerres, Bâtiment C., F-91230 Montgeron (FR). CASTAN, Catherine [FR/FR]; Le Verger du Gontey, 55, chemin du May, F-69530 ORLIENAS (FR). MEYRUEIX, Rémi [FR/FR]; 42, rue Hector-Berlioz, Le Bois Saint Rambert, F-69009 Lyon (FR).

## Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.*

WO 2004/000286 A1

(54) Title: MICROCAPSULES FOR THE DELAYED, CONTROLLED RELEASE OF PERINDOPRIL

(54) Titre : MICROCAPSULES POUR LA LIBÉRATION RETARDEE ET CONTRÔLÉE DU PERINDOPRIL

(57) Abstract: The invention relates to orally-administered microcapsules which allow the delayed, controlled release of perindopril or one of the pharmaceutically-acceptable salts thereof.

(57) Abrégé : La présente invention concerne des microcapsules permettant la libération retardée et contrôlée du périndopril, ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, destinés à une administration par voie orale.

## MICROCAPSULES POUR LA LIBERATION RETARDEE ET CONTROLEE DU PERINDOPRIL

La présente invention concerne des microcapsules permettant la libération retardée et contrôlée du périndopril, ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, destinés à une administration par voie orale.

Plus précisément, l'invention se rapporte à une forme microparticulaires à libération retardée et contrôlée de périndopril ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables pour laquelle les phases de libération retardées et contrôlées sont maîtrisées de façon certaine grâce à un double mécanisme : libération "temps dépendant" déclenchée au bout d'une certaine durée de séjour dans l'estomac et libération "pH dépendant" déclenchée par un changement de pH lors de l'entrée des particules dans le petit intestin. Les microparticules de la présente invention sont des microcapsules de granulométrie comprise entre 100 et 1 200 microns contenant du périndopril et individuellement recouvertes par au moins une pellicule d'enrobage permettant la libération retardée et contrôlée de périndopril.

Le périndopril sous forme de sel de *tert*-butylamine est commercialisé pour le traitement de l'hypertension artérielle et l'insuffisance cardiaque congestive. Il exerce notamment une activité inhibitrice sur certaines enzymes, comme les carboxyprotepidases, les enképhalinases ou la kininase II. Il inhibe notamment la transformation du décapeptide angiotensine I en l'octapeptide angiotensine II, responsable dans certains cas de l'hypertension artérielle, en agissant sur l'enzyme de conversion.

L'emploi en thérapeutique du périndopril et de ses sels pharmaceutiquement acceptables permet de réduire ou même supprimer l'activité de ces enzymes responsables de la maladie hypertensive ou de l'insuffisance cardiaque. L'action sur la kininase II a pour résultat l'augmentation de la bradykinine circulante et également la baisse de la tension artérielle par cette voie.

Actuellement, le sel de *tert*-butylamine du périndopril est administré par voie orale sous la forme d'un comprimé à libération immédiate.

Il est administré le matin en une prise quotidienne. Or, il est nécessaire pour un meilleur traitement de l'hypertension artérielle non seulement de contrôler la tension artérielle sur 5 l'ensemble du nycthémère mais aussi de s'assurer que le traitement permet de prévenir les remontées tensionnelles observées notamment le matin au lever des patients. Ces remontées tensionnelles dites "pics du petit matin" sont extrêmement difficiles à contrôler et sont responsables de nombreux accidents cardiovasculaires chez des patients hypertendus.

10 Les comprimés de périndopril actuellement commercialisés permettent une couverture tensionnelle sur l'ensemble du nycthémère mais ne permettent pas de se préserver totalement de la remontée tensionnelle observée au petit matin chez les patients hypertendus. Une étude clinique chez des patients hypertendus a montré qu'avec le comprimé actuel les concentrations plasmatiques en principe actif atteintes entre 4 et 8 15 heures du matin sont insuffisantes pour que disparaîsse complètement cette remontée tensionnelle observée le matin.

Afin de résoudre ce problème, il était nécessaire de mettre au point une nouvelle forme galénique administrable une fois par jour, garantissant la libération et l'absorption du principe actif au moment souhaité et permettant de contrôler efficacement la tension 20 artérielle sur toute la journée et notamment le matin.

Or, force est de constater que la plupart des formes à libération retardée ne peuvent assurer de façon certaine la libération de principe actif dans un délai prescrit.

En effet, de manière conventionnelle, les formes à libération retardée sont obtenues par revêtement du PA par une couche de polymère entérique par exemple de copolymère 25 d'acide méthacrylique et d'ester méthylique d'acide méthacrylique: EUDRAGIT®L. Ce type de revêtement entérique est connu pour présenter une perméabilité réduite dans les

conditions de pH acide de l'estomac et se dissoudre lorsque le pH remonte à une valeur proche de celle régnant dans le petit intestin, libérant ainsi le principe actif (PA). Cependant, la variabilité interindividuelle des conditions de pH gastrique et de la durée de la vidange gastrique ne permettent pas d'assurer de façon certaine la libération du PA après 5 une durée déterminée.

Les systèmes à libération retardée purement "temps dépendant" c'est à dire pour lesquels la libération du PA se déclenche au bout d'une durée déterminée de séjour dans le tractus gastro intestinal ne sont pas non plus satisfaisants. En effet, du fait de la variabilité intra et 10 inter individuelle du temps de résidence gastrique, la libération du périndopril peut se produire après que celui ci soit passé devant sa fenêtre d'absorption, qui est localisée pour dans le cas du périndopril, dans la partie haute du tractus gastrointestinal. La bioabsorption peut ainsi être très faible, voire nulle.

Dans ce contexte, il serait particulièrement avantageux de disposer d'une forme galénique 15 à libération retardée et contrôlée du périndopril permettant d'assurer de façon certaine la libération grâce à un double mécanisme de déclenchement de la libération du périndopril : libération "temps dépendant" déclenchée au bout d'une durée contrôlée dans l'estomac et libération "pH dépendant" déclenchée par une remontée du pH lorsque la forme galénique pénètre dans l'intestin. Ces deux facteurs déclencheurs de la libération du périndopril mis en série confèreraient au système galénique une grande sécurité d'emploi. La libération du 20 périndopril serait ainsi garantie après un temps de latence préréglé, même si la variation de pH n'est pas intervenue comme déclencheur.

Il serait aussi avantageux que la forme à libération retardée et contrôlée soit constituée 25 d'une pluralité de microcapsules de diamètre inférieur à 1200 microns. En effet, pour une telle forme, la dose de PA à administrer se répartit entre un grand nombre de microcapsules et présente de ce fait les avantages intrinsèques suivants :

- Le temps de séjour des microcapsules dans les parties hautes du tractus peut être prolongé, ce qui assure un accroissement de la durée de passage du périndopril devant les fenêtres d'absorption et maximise ainsi la biodisponibilité du périndopril.

- La mise en oeuvre d'un mélange de microcapsules de profils de libération retardée et contrôlée différents, permet de réaliser des profils de libération présentant plusieurs vagues de libération ou assurant par un réglage adéquat des différentes fractions, un niveau de concentration plasmatique du PA constant.
- 5     • La variabilité de la vidange gastrique est moindre, car elle s'effectue ici sur un grand nombre de particules et est statistiquement plus reproductible.
- 10    • On évite la mise en contact des tissus avec une dose élevée en périndopril "dose dumping". Chaque microcapsule ne contient en effet qu'une dose très réduite en périndopril. On s'affranchit ainsi du risque de détérioration des tissus par surconcentration locale de périndopril.
- 15    • Il est possible de combiner plusieurs formes galéniques ayant des cinétiques de libération différentes (libération immédiate et/ou retardée et/ou prolongée) comportant plusieurs principes actifs co administrés avec le périndopril, dans ces systèmes "multimicrocapsulaires".

Enfin, il serait également souhaitable que la couche de revêtement autour des microcapsules soit de faible épaisseur. En effet, une couche de revêtement de forte épaisseur aurait plusieurs conséquences négatives :

- 20    (a) la fraction massique en excipient dans la forme galénique serait trop élevée, d'où une masse de médicament trop importante pour être avalée aisément et donc, in fine, des problèmes d'observance qui mettent en péril le succès du traitement ;  
     (b) le temps de fabrication des microcapsules serait très long, typiquement de plusieurs heures.

Ce problème se pose avec d'autant plus d'acuité pour le périndopril, du fait de sa solubilité très élevée en milieu aqueux.

En définitive, il serait donc particulièrement intéressant de disposer d'une forme galénique à libération retardée et contrôlée de périndopril, ayant simultanément les propriétés suivantes :

- la libération du périndopril peut se déclencher de deux façons : par libération "temps dépendant" lorsque la durée de séjour des particules dans l'estomac excède le temps de latence souhaité avant la libération du périndopril ; ou par libération « pH dépendant » lorsque le système pénètre dans l'intestin. Ces deux facteurs déclencheurs de la libération de périndopril mis en série garantissent la libération du périndopril après un temps de latence préréglé, même si la variation de pH n'est pas intervenue comme déclencheur ;
- elle est constituée d'une pluralité de microcapsules de périndopril enrobées, de petite taille ;
- la fraction massique en excipients d'enrobage est limitée.

La libération retardée ou contrôlée de principes actifs a fait l'objet de nombreux travaux.

La demande FR-A-00 14876 décrit un médicament de traitement des diabètes de type II, comprenant plusieurs milliers de microcapsules d'anti-hyperglycémiques (metformine) constituées chacune par un cœur comportant au moins un anti-hyperglycémique et par une pellicule d'enrobage (e.g acide stéarique et éthylcellulose ) appliquée sur le cœur et permettant la libération prolongée *in vivo* de l'anti-hyperglycémique. Ces microcapsules ont une granulométrie comprise entre 50 et 1000  $\mu\text{m}$ .

Cette demande FR-A-00 14876 n'indique pas comment obtenir la libération retardée et contrôlée de PA, avec un déclenchement "temps dépendant" et "pH dépendant" du PA.

La demande de brevet européen EP-A-0 609 961 divulgue des granulés oraux de morphine, permettant la libération contrôlée du PA s'accélérant par la remontée du pH.

Ces granulés comportent :

- o un cœur en sucre ( $\phi = 100 \text{ à } 1700 \mu\text{m}$ ),

- o enrobé d'une couche d'actif avec un liant (PVP ou HydroxyPropyl-MéthylCellulose : HPMC),
- o et une enveloppe extérieure à base :
  - ◆ d'un polymère insoluble indépendamment du pH (éthylcellulose ou copolymère d'ester méthacrylique et de méthacrylate d'ammonium: EUDRAGIT® RS ou RL),
  - ◆ d'un polymère entérique insoluble à pH acide (copolymère d'acide méthacrylique et d'ester méthylique d'acide méthacrylique: EUDRAGIT® L),
    - ◆ d'un composant partiellement soluble à pH acide (polyéthylène glycol, PVP, HPMC, Alcool PolyVinylique : APV),
    - ◆ éventuellement un plastifiant (diéthylphthalate),
    - ◆ et éventuellement une charge (talc).

Les fractions massiques en PA sont par exemple: 41%, 38,0%, 29,0% ; et les fractions massiques en enveloppe extérieure e.g. : 14,1%, 21,5%, et 12,3% (poids sec).

La libération du PA est présente à tout pH et s'amplifie lorsque le pH passe de pH 1.2 à pH 7.5. Il s'agit donc d'une forme à libération prolongée et non retardée.

Le brevet US-A-6,033,687 décrit une formulation à base de diltiazem constituée par un mélange de deux types de granulés ( $\phi=1,4$  mm) à base de diltiazem : des granulés à temps de latence court et des granulés à temps de latence long. Les profils de libération sont mesurés à pH 1. Ces granulés comprennent :

- un cœur neutre en sucre ( $\phi= 0,5-1,5$  mm ),
- une couche de diltiazem associé à un liant (hydroxypropylcellulose, carboxyméthylcellulose, éthylcellulose, polyvinylpyrrolidone, alginate, EUDRAGIT®),
- une couche externe unique à base de lubrifiant (talc), de 2 copolymères d'ester méthacrylique et de méthacrylate d'ammonium (EUDRAGIT® RS et EUDRAGIT® RL ; d'un tensioactif (laurylsulfate de sodium) et d'un plastifiant (triéthylcitrate).

Dans les granulés à temps de latence court, la fraction massique de l'enrobage représente 12,3 % contre 30,3 % dans les granulés à temps de latence long. Cette technique ne permet cependant pas d'obtenir des temps de latence longs pour des taux de pelliculage inférieurs

à 30 %. Par ailleurs, compte tenu de la variabilité intra et inter individuelle du temps de résidence gastrique, ce système à libération retardée "temps dépendant" peut libérer le PA après que celui ci soit passé devant sa fenêtre d'absorption. Il en résulte une perte importante de biodisponibilité.

5 Le brevet EP-B-0 263 083 décrit une composition de revêtement de microcapsules permettant d'obtenir un profil de libération de PA d'ordre zéro et reproductible. Cette composition de revêtement est composée d'un mélange :

- 10 ○ d'un durcisseur polymère assurant la tenue mécanique de cette membrane et qui pouvant être e.g. : éthylcellulose ou copolymère(s) de l'acide méthacrylique (Eudragit E, L S ou RS),
- d'un composé lipophile, e.g. : acide stéarique ou paraffine,
- et de talc.

15 Cette composition de revêtement est présente dans les microcapsules à raison de 15 à 35 % en poids sur sec, par exemple. Les ratios durcisseur polymère/ composé lipophile sont par exemple de 44 et 42 % respectivement dans les exemples 4 et 5.

Les profils obtenus sont des profils sans temps de latence de durée variable. Il n'est ni enseigné, ni mentionné comment obtenir un profil à libération retardée et contrôlée déclenchée au terme du temps de latence et/ou par une variation du pH.

La demande WO 01/58424 A1 divulgue des microcapsules "flottantes" enrobées d'un revêtement entérique par exemple à base d'Eudragit® L, de stéarate de magnésium, de talc et d'un plastifiant tel que le dibutylsébaçate. Ce revêtement peut être enveloppé dans une pellicule "bioadhésive" à base de chitosan e.g. Comme tout revêtement entérique, le revêtement entérique selon ce WO 01/58424, vise une libération "pH dépendant" et non pas la conjonction d'une libération « temps dépendant » et d'une libération "pH dépendant".  
20 Par ailleurs, les figures 1 à 3 de cette demande montrent que le simple objectif de libération "pH dépendant" est très imparfaitement atteint puisque jusqu'à 20 % du PA sont libérés en deux heures seulement à pH acide constant. Les particules décrites dans cette demande flottant dans l'estomac, leur temps de séjour gastrique est décrit comme accru, si bien que  
25

l'on peut même craindre l'absence de toute libération "pH déclenchée". Finalement, la libération s'effectue de manière incontrôlée par les fuites parasites de PA dans l'estomac.

Dans toutes ces propositions techniques antérieures, la libération du PA s'opère soit sous l'effet de la durée de séjour dans le tractus gastro-intestinal, soit sous l'effet d'une remontée du pH qui intervient lors du passage de l'estomac dans l'intestin grêle. Dans le premier cas, il n'est pas possible d'avoir un temps de latence sans libération de PA (pas de forme retard), et il est à craindre qu'une partie du PA soit libéré *in vivo* au delà de sa fenêtre d'absorption (parties hautes du tractus gastrointestinal), donc non absorbé dans le cas d'une vidange gastrique trop rapide. Dans le deuxième cas, si la forme galénique stagne dans l'estomac, elle n'est pas soumise à un changement de pH. D'où il s'ensuit que la libération du PA n'intervient pas ou peu. Il va de soi qu'une telle situation est tout à fait fâcheuse, puisque cela équivaut à une absorption du PA trop faible, voire nulle, donc à une inefficacité thérapeutique qui peut s'avérer grave.

Ainsi l'art antérieur ne comprend pas de système galénique permettant de retarder et de garantir de façon certaine la libération d'un principe actif par un double mécanisme de libération "temps dépendant" et de libération "pH dépendant".

D'autre part, il n'existe à ce jour aucune forme à libération retardée et contrôlée d'antihypertenseur de type inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.

Dans un tel état de la technique, l'un des objectifs essentiels de la présente invention est de fournir un nouveau système galénique multimicroparticulaire pour l'administration orale de périndopril, ce système étant du type à libération retardée et contrôlée assurant la libération du périndopril de façon certaine grâce à un double mécanisme de libération "temps dépendant" et "pH dépendant". Ces deux facteurs déclencheurs de la libération de périndopril mis en série garantissent la libération du périndopril après un temps de latence préréglé, même si la variation de pH n'est pas intervenue comme déclencheur.

Un objectif essentiel de la présente invention est de proposer une forme galénique formée d'une pluralité de microcapsules permettant de libérer le périndopril à pH 1.4 selon un profil de libération retardée présentant un temps de latence de durée ajustable entre 1 et

8 heures, et de préférence 1 à 5 heures, suivi d'une phase de libération dont le temps de demi libération  $t_{1/2}$  est compris entre 0,5 et 25 heures.

5 Un objectif essentiel de la présente invention est de proposer une forme galénique formée d'une pluralité de microcapsules permettant de libérer le périndopril selon un profil contrôlé lorsque le pH est passé de 1,4 à 6,8.

10 Un autre objectif de la présente invention est de proposer une forme galénique constituée d'un grand nombre, par exemple de l'ordre de plusieurs milliers, de microcapsules, cette multiplicité assurant statistiquement une bonne reproductibilité de la cinétique de transit du périndopril dans tout le tractus gastro-intestinal, de sorte qu'il en résulte un meilleur contrôle de la biodisponibilité et donc une meilleure efficacité.

15 Un objectif essentiel de la présente invention est de proposer une forme galénique de périndopril formée d'une pluralité de microcapsules enrobées évitant l'emploi de fortes quantités d'enrobant.

20 Un objectif essentiel de la présente invention est de proposer une forme pharmaceutique formée d'une pluralité de microcapsules enrobées permettant de présenter le périndopril sous une forme facile à avaler : sachet, comprimé délitable, gélule, etc...

25 Un objectif essentiel de la présente invention est de proposer une forme pharmaceutique formée d'une pluralité de microcapsules enrobées permettant de mélanger le périndopril avec plusieurs autres principes actifs .

Un autre objectif de la présente invention est de proposer une forme pharmaceutique formée d'une pluralité de microcapsules enrobées contenant chacune un cœur neutre.

S'étant fixés les objectifs ci-dessus, parmi d'autres, les inventeurs ont eu le mérite de mettre au point, pour assurer une libération certaine et une bonne bioabsorption du périndopril, un système galénique de préférence multimicrocapsulaire ayant pour caractéristique essentielle un double déclenchement de la libération du périndopril. Cela représente un

progrès majeur par rapport aux systèmes à libération contrôlée de PA connus jusqu'alors, dans lesquels la libération du PA est déclenchée par un seul facteur : le temps de séjour dans le tractus gastro-intestinal pour certains systèmes, une variation de pH pour d'autres systèmes.

5 Plus particulièrement, la présente invention concerne des microcapsules "réservoir" pour la libération retardée et contrôlée de périndopril ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables destinées à l'administration orale caractérisées en ce que ces microcapsules sont :

- 10 ◆ constituées par des microparticules de périndopril ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables recouvertes chacune d'au moins une pellicule d'enrobage, cette pellicule d'enrobage étant constituée d'un matériau composite comprenant :
- au moins un polymère hydrophile A porteur de groupements ionisés à pH neutre,
  - au moins un composé hydrophobe B, et représentant une fraction massique (% poids par rapport à la masse totale des microcapsules) inférieure ou égale à 40,
- 15 ◆ et de diamètre inférieur à 1200 microns.

Le polymère hydrophile A porteur de groupements ionisés à pH neutre sera avantageusement choisi parmi les dérivés de la cellulose : cellulose acétate phthalate, hydroxypropyl méthylcellulose phthalate, hydroxypropyl cellulose acétate succinate ; les copolymères d'acide méthacrylique et d'ester d'acide méthacrylique, les copolymères d'acide méthacrylique et d'ester d'acide acrylique (Eudragit® S ou L) et leurs mélanges.

De manière préférentielle, le polymère hydrophile A est un copolymère d'acide méthacrylique et de méthacrylate de méthyle (Eudragit® L100 / Eudragit® S100) ainsi que le copolymère d'acide méthacrylique et d'acrylate d'éthyle (Eudragit® L100-55).

25 Le composé hydrophobe B sera avantageusement un composé choisi parmi les cires végétales (Dynasan® P60, Dynasan® P116), les huiles végétales hydrogénées, les triglycérides hydrogénés et leurs mélanges.

De manière préférentielle, le composé hydrophobe B est une huile végétale hydrogénée.

Plus particulièrement, la pellicule d'enrobage de ces microcapsules de périndopril est constituée du mélange de polymère hydrophile A et du composé hydrophobe B dans lequel le ratio pondéral B/A est compris entre 0,2 et 4, de préférence entre 0,5 et 2.

5 Ce ratio sera ajusté en fonction de la nature des constituants de telle sorte que :

- à pH constant 1.4, le profil de dissolution comporte une phase de latence de durée supérieure ou égale à une demi heure –de préférence comprise entre 1 et 8 heures, et plus préférentiellement encore de 1 à 5 heures,
- le passage, à tout instant pendant la phase de latence, de pH 1.4 à pH 6.8, conduit à une 10 phase de libération du périndopril.

L'un des avantages déterminants du système galénique multimicrocapsulaire, à libération retardée et contrôlée de périndopril, selon l'invention, est de faire intervenir *in vivo* deux facteurs déclencheurs de la libération du périndopril dans le tractus gastro-intestinal (TGI), à savoir :

- 15
- la durée de séjour dans l'estomac : libération "temps déclenchée",
  - la variation de pH : libération "pH déclenchée".

Ces deux facteurs déclencheurs de la libération de périndopril sont en série, de sorte qu'ils confèrent au système galénique une grande sécurité d'emploi. La libération du périndopril est ainsi garantie après un temps de latence préréglé, même si la variation de pH n'est pas 20 intervenue comme déclencheur. Les problèmes de variabilité interindividuelle sont ainsi surmontés. L'efficacité du médicament comprenant un tel système galénique est assurée, en respectant une chronobiologie prédéterminée et adaptée à la performance thérapeutique visée.

En outre, pour le périndopril dont la fenêtre d'absorption est limitée, il est particulièrement avantageux que la forme à libération retardée puis contrôlée soit une pluralité de microcapsules "réservoir" et présente de ce fait les avantages intrinsèques suivants :

- Le temps de séjour des microcapsules dans les parties hautes du tractus peut être prolongé, ce qui assure un accroissement de la durée de passage du périndopril devant sa fenêtre d'absorption et maximise ainsi sa biodisponibilité,
- La mise en oeuvre d'un mélange de microcapsules de profils de libération retardée et contrôlée différents, permet de réaliser des profils de libération présentant plusieurs vagues de libération ou assurant par un réglage adéquat des différentes fractions, un niveau de concentration plasmatique du périndopril constant,
- Moindre sensibilité du système à la variabilité de la vidange gastrique, car la vidange qui s'effectue ici sur un grand nombre de particules est statistiquement plus reproductible,
- Possibilité de présenter ces microcapsules sous forme par exemple de sachet, de gélule ou de comprimé.

Le système galénique multimicrocapsulaire selon l'invention permet d'assurer de manière sûre une libération retardée et contrôlée du périndopril dans le TGI, grâce à deux déclencheurs et de se soustraire ainsi à la variabilité inter et intra individuelle des conditions de pH in vivo, lors de la vidange gastrique, tout en étant viable économiquement et facile à ingérer (observance optimisée).

Selon une caractéristique particulièrement avantageuse du mode de réalisation préféré :

- à pH constant 1,4, la phase de libération contrôlée suivant la phase de latence est telle que le temps de libération de 50 % poids de périndopril ( $t_{1/2}$ ) se définit comme suit (en heures) :  $0,25 \leq t_{1/2} \leq 35$  de préférence  $0,5 \leq t_{1/2} \leq 20$ .

En pratique, la phase de libération du profil de libération in vitro du périndopril à pH 1,4 constant, possède un temps de demi-libération qui est ajustable.

Selon une autre caractéristique intéressante du mode de réalisation préféré :

- la phase de libération suivant le passage de pH 1,4 à pH 6,8 est telle que le temps de libération de 50 % poids de périndopril ( $t_{1/2}$ ) se définit comme suit (en heures) :  $0,25 \leq t_{1/2} \leq 20$  de préférence  $0,5 \leq t_{1/2} \leq 15$ .

De préférence, les microcapsules selon l'invention comprennent une seule pellicule d'enrobage composite AB. Cela simplifie leur préparation et limite le taux d'enrobage.

Dans les microcapsules selon l'invention, le périndopril sera préférentiellement sous forme de sel de *tert*-butylaminde ou de sel d'arginine.

De préférence, le périndopril est déposé sur un cœur neutre de diamètre compris entre 50 et 600 microns.

Sans que cela ne soit limitatif, il est apparu souhaitable que le cœur neutre soit en sucre, dextrose, lactose ou cellulose.

Avantageusement, le périndopril est déposé par les techniques connues de l'homme de l'art, par exemple la technique de spray coating en lit d'air fluidisé, sur des coeurs neutres en dextrose ou sucre de diamètre compris entre 200 et 600 microns.

Sur le plan quantitatif, la monocouche d'enrobant représente au plus 40 %, de préférence au plus 30 % en poids des microcapsules. Un tel taux limité de pelliculage permet de réaliser des unités galéniques contenant chacune une haute dose de principe actif soluble, sans dépasser une taille rédhibitoire au regard de la déglutition. L'observance et donc le succès du traitement ne peuvent que s'en trouver améliorés.

Les microcapsules décrites ci-dessus peuvent être utilisées pour la fabrication de nouvelles compositions pharmaceutiques à base de Périndopril, ayant des performances

thérapeutiques optimisées et se présentant de préférence sous forme de comprimés avantageusement délitables et plus préférablement encore orodispersibles, de poudres ou de gélules, et préférentiellement de gélules.

5 Ces microcapsules sont d'autant plus intéressantes qu'elles sont en outre parfaitement tolérées par l'organisme, notamment au niveau gastrique et par ailleurs peuvent être obtenues de façon aisée et économique.

10 La présente invention concerne, en outre, ces nouvelles compositions pharmaceutiques en tant que telles, originales dans leur structure, leur présentation et leur composition. Ces compositions pharmaceutiques seront préférentiellement administrées par voie orale, le soir avant le coucher.

Il est à noter qu'il peut être intéressant de mélanger dans une même gélule, un même comprimé ou une même poudre, au moins deux types de microcapsules à cinétiques de libération différentes mais comprises dans le cadre caractéristique de l'invention.

15 On peut également mélanger les microcapsules selon l'invention avec une certaine quantité de Périndopril immédiatement disponible dans l'organisme.

Il est également envisageable d'associer des microcapsules contenant du Périndopril et des microcapsules contenant des principes actifs différents du Périndopril. A titre préférentiel, des microcapsules d'indapamide pourront être associées aux microcapsules de perindopril.

20 Ces compositions pharmaceutiques obtenues à partir des microcapsules selon l'invention sont utiles pour le traitement de l'hypertension artérielle et de l'insuffisance cardiaque.

25 Une étude clinique réalisée chez des patients avec des gélules contenant les microcapsules selon l'invention administrés vers 22 heures a montré que les concentrations plasmatiques en principe actif étaient telles qu'elles permettaient d'atténuer considérablement la remontée tensionnelle observée le matin et d'améliorer le contrôle tensionnel pendant cette période.

D'autre part, il a été montré lors de cette étude clinique qu'avec les microcapsules selon l'invention, la couverture tensionnelle était parfaite sur tout le nycthémère, que le nombre de patients ayant une pression artérielle normalisée était supérieur à celui obtenu avec le comprimé à libération immédiate, et qu'enfin, il y avait une nette amélioration de la variabilité interindividuelle.

Enfin, il a été observé lors de cette étude clinique que contrairement au comprimé à libération immédiate actuellement commercialisé qui doit être pris avant les repas, la prise d'aliments modifiant la biodisponibilité du principe actif, les compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent être administrées avant ou après les repas, sans modification de biodisponibilité.

Les exemples de formules de microcapsules de périndopril ci-dessous illustrent l'invention mais ne la limitent en aucune façon.

### **1- Préparation des microcapsules de périndopril**

#### *Stade A : Préparation de microparticules de périndopril*

15 157 g de sel de *tert*-butylamine de périndopril et 17 g d'hydroxypropylcellulose sont dispersés ou dissous dans 1300 g d'acetone. La suspension est pulvérisée sur 1500 g de microsphères de sucre de diamètre moyen compris entre 355 et 500 µm dans un spray coater glatt gpcg3. Les conditions de pelliculage sont : température produit : 37-39°C, débit de pulvérisation : 42 g/mn, pression d'atomisation : 1.8 bar.

#### *Stade B : Préparation des microcapsules de périndopril*

Le polymère hydrophile A et le composé hydrophobe B sont dissous dans de l'isopropanol chauffé à une température comprise entre 65 et 75°C. La solution est pulvérisée sur des microparticules de périndopril préparées au stade A dans un spray coater Glatt GPCG3. Les conditions de pelliculage sont : température produit : 36-41°C, débit de pulvérisation : 25 8-12 g/mn, pression d'atomisation : 1.5 bar.

## **2- Exemples de formulations**

Les exemples de formulations sont donnés dans le tableau ci-dessous :

	<i>Constituants des microcapsules</i>		
	<i>Microparticules de périndopril (g)</i>	<i>Polymère A Nature / Quantité (g)</i>	<i>Composé B Nature / Quantité (g)</i>
Formule 1	700	Eudragit® L100 37	Huile de palme hydrogénée 56
Formule 2	700	Eudragit® L100 140	Huile de palme hydrogénée 93
Formule 3	700	Eudragit® L100 93	Huile de palme hydrogénée 140
Formule 4	700	Eudragit® L100 105	Huile de palme hydrogénée 70
Formule 5	700	Eudragit® L100-55 105	Huile de graines de coton hydrogénée 70

Remarques : les quantités d'isopropanol utilisées pour la préparation des formules 1 à 5  
 5 sont respectivement égales à 840 g, 2100 g, 2100 g, 1576 g et 1575 g.

Les microcapsules des formules 1 à 5 ont été testées dans un dissolutest conforme à la pharmacopée maintenu à 37°C et agité à 100 tours/mn à pH constant ou à pH évolutif.

Les résultats de ces tests sont présentés dans les figures 1 à 5 en annexe.

### **Figure 1 : Formules 1 et 2**

Ces microcapsules ont été testées dans un milieu HCl à pH 1,4. Les profils de libération obtenus avec ces deux formules sont caractéristiques d'une libération retardée et prolongée. Pour ces deux formules, la phase de libération est déclenchée sans changement de pH après des temps de latence respectivement de 1 et 3 heures. On remarquera que malgré des temps de latence différents, les choix appropriés des rapports Eudragit® L100/Huile de palme ont permis d'obtenir des cinétiques de libération voisines durant la phase de libération.  
 10  
 15

**Figure 2 : Formule 2**

Ces microcapsules ont été testées dans un milieu HCl à pH 1,4 pendant 3 heures puis à pH 6,8 ultérieurement.

Les profils de libération sont caractéristiques d'une libération retardée et prolongée. La phase de libération est déclenchée lors du changement de pH à  $t = 3$  heures. L'examen comparatif des profils de libération à pH 1,4 et à pH évolutif démontre donc que la libération peut être déclenchée par un changement de pH ou sans changement de pH.

**Figure 3 : Formule 3**

10 Ces microcapsules ont été testées dans un milieu HCl pH 1,4. Le profil de libération est caractéristique d'une libération retardée et prolongée. La phase de libération est déclenchée sans changement de pH après un temps de latence de 6 heures.

**Figure 4 : Formule 4**

15 Ces microcapsules ont été testées soit à pH constant (1,4) soit à pH évolutif (1,4 pendant 3 heures puis 6,8). Les profils de libération sont caractéristiques d'une libération retardée et prolongée. On constate qu'à pH évolutif, la phase de libération est doublement déclenchée à  $t = 1$  heure sans changement de pH, puis l'élévation du pH à  $t = 3$  heures déclenchent après changement de pH le deuxième mécanisme de libération.

**Figure 5 : Formule 5**

20 Ces microcapsules ont été testées à pH 1,4. Le profil de libération est caractéristique d'une libération retardée et prolongée. La phase de libération est déclenchée sans changement de pH après un temps de latence de 2,5 heures.

**REVENDICATIONS**

1- Microcapsules "réservoir" pour la libération retardée et contrôlée de périndopril ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables destinées à l'administration orale caractérisées en ce que ces microcapsules sont :

- 5      ♦ constituées par des microparticules de périndopril ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables recouvertes chacune d'au moins une pellicule d'enrobage, cette pellicule d'enrobage étant constituée d'un matériau composite comprenant :
- au moins un polymère hydrophile A porteur de groupements ionisés à pH neutre,
  - au moins un composé hydrophobe B, et représentant une fraction massique (% poids par rapport à la masse totale des microcapsules) inférieure ou égale à 40,
- 10     ♦ et de diamètre inférieur à 1200 microns.

15     2- Microcapsules de périndopril ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables selon la revendication 1 caractérisées en ce que le polymère hydrophile A est choisi parmi les dérivés de la cellulose, les copolymères d'acide méthacrylique et d'ester d'acide méthacrylique, les copolymères d'acide méthacrylique et d'ester d'acide acrylique et leurs mélanges.

20     3- Microcapsules selon la revendication 2 caractérisées en ce que le polymère hydrophile A est un copolymère d'acide méthacrylique et de méthacrylate de méthyle ou le copolymère d'acide méthacrylique et d'acrylate d'éthyle.

4- Microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1, 2 ou 3 caractérisées en ce que le composé hydrophobe B est choisi parmi les cires végétales, les huiles végétales hydrogénées, les triglycérides hydrogénés et leurs mélanges.

25     5- Microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisées en ce que le composé hydrophobe B est une huile végétale hydrogénée.

6- Microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisées en ce que la pellicule d'enrobage est constituée du mélange de polymère hydrophile A et du composé hydrophobe B dans lequel le ratio pondéral B/A est compris entre 0,2 et 4.

5 7- Microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 telles que la pellicule d'enrobage permette :

- à pH 1,4 d'obtenir un profil de dissolution comportant une phase de latence de durée supérieure ou égale à une demi heure -de préférence comprise entre 1 et 8 heures, et plus préférentiellement encore de 1 à 5 heures,
- d'obtenir une phase de libération du périndopril, à tout instant pendant la phase de latence 10 après passage de pH 1,4 à pH 6,8.

8- Microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 caractérisées en ce que le périndopril est sous forme de sel de tert-butylamine.

9- Microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 caractérisées en ce que le périndopril est sous forme de sel d'arginine.

15 10- Microcapsules selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 caractérisées en ce que le périndopril ou l'un de ses sels pharmaceutiquement acceptable est déposé sur un cœur neutre de diamètre compris entre 50 et 600 microns.

11- Microcapsules selon la revendication 10 caractérisées en ce que le cœur neutre hydrophile est en sucre, dextrose, lactose ou cellulose.

20 12- Microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 caractérisées en ce qu'elles sont associées à des microcapsules d'indapamide.

13- Utilisation des microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 pour la préparation de compositions pharmaceutiques de préférence sous forme de comprimés, de poudres ou de gélules.

- 20 -

**14-** Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend des microcapsules selon l'une quelconque des revendications 1 à 12.

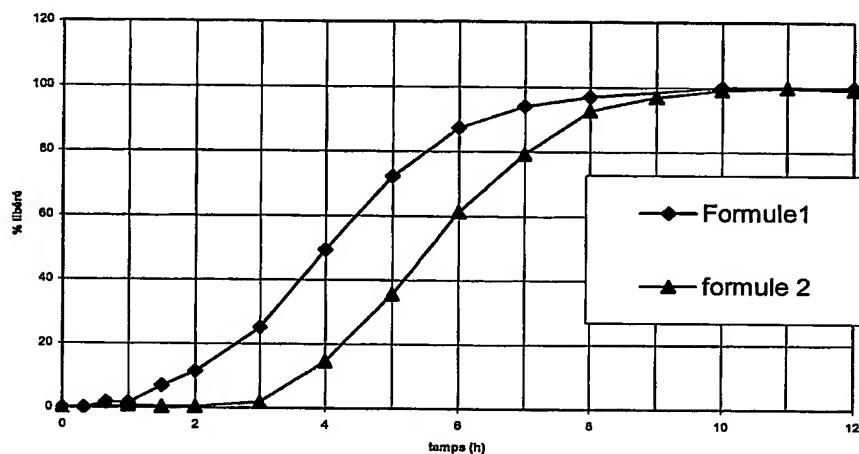
5

**15-** Composition pharmaceutique selon la revendication 14 caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de comprimés, de poudres ou de gélules, préférentiellement de gélules.

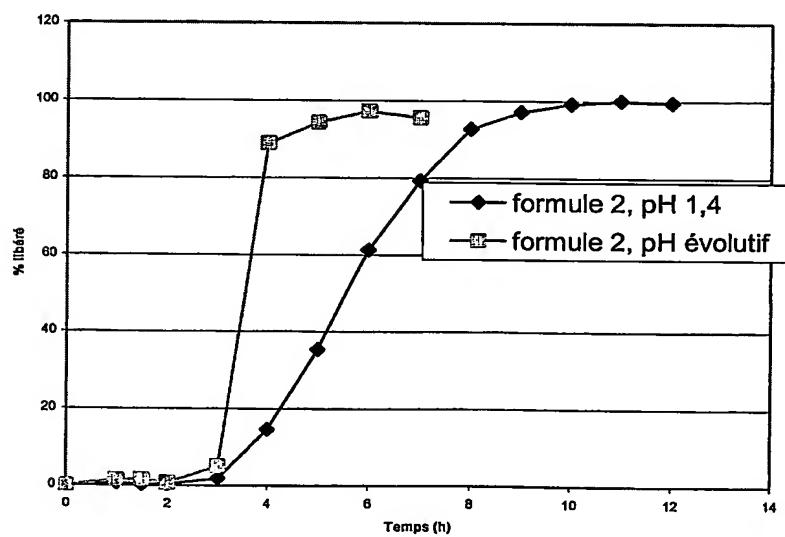
**16-** Composition pharmaceutique selon les revendications 14 ou 15 utile pour le traitement de l'hypertension artérielle et l'insuffisance cardiaque.

## Annexes

*FIGURE 1 : Profils de libération des microcapsules de périndopril des formules 1 et 2 sans changement de pH*

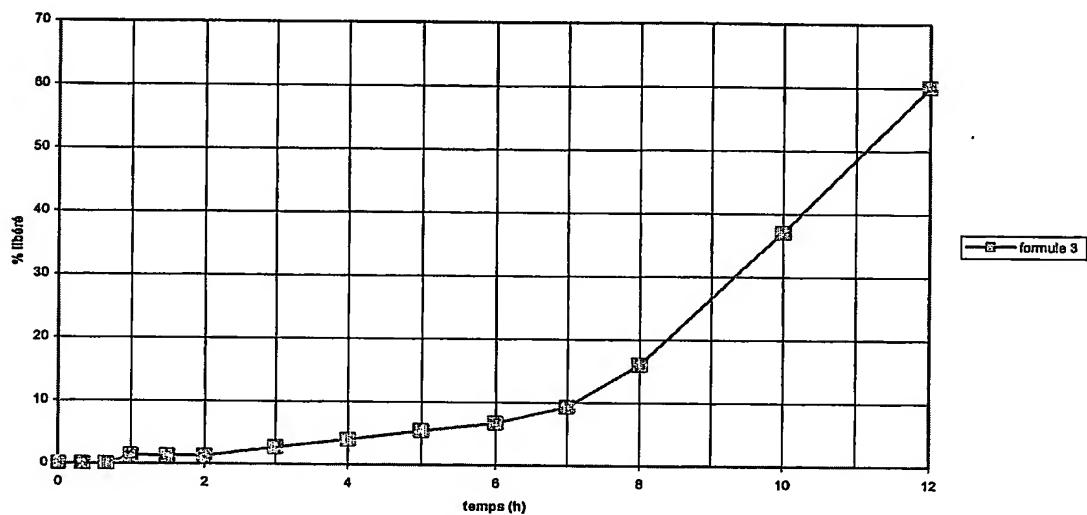


*FIGURE 2 : Profils de libération des microcapsules de périndopril de la formule 2 avec ou sans changement de pH*

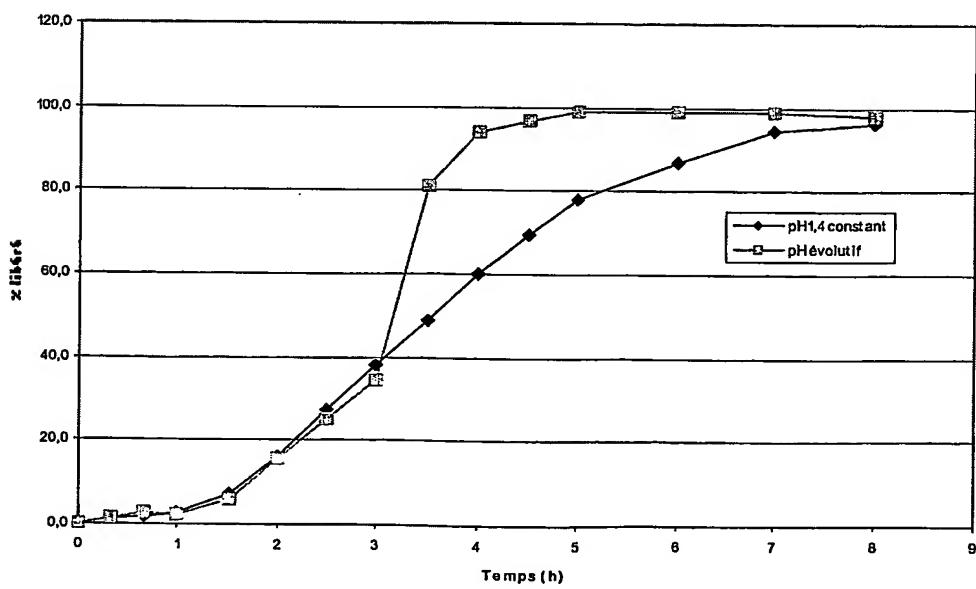


## Annexes

*FIGURE 3: Profil de libération des microcapsules de périndopril de la formule 3  
sans changement de pH*

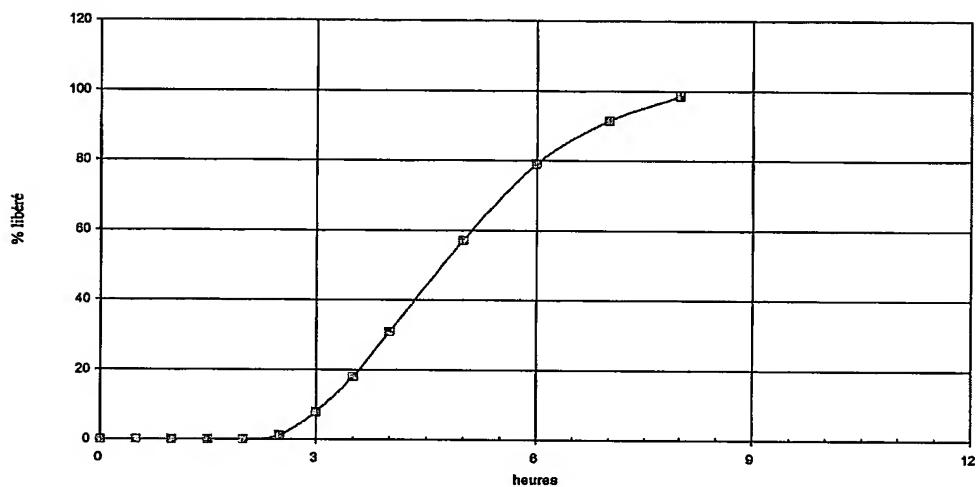


*FIGURE 4 : Profils de libération des microcapsules de périndopril de la formule 4  
avec ou sans changement de pH*



Annexes

*FIGURE 5 : Profil de libération de microcapsules de périndopril de formule 5  
sans changement de pH*



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/01931

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K9/50 A61K31/40 A61K31/401 A61K38/55

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 56355 A (HEXAL) 17 December 1998 (1998-12-17) claims examples -----	1-3, 6, 8, 13-16
A	GB 2 352 172 A (WEST) 24 January 2001 (2001-01-24) claims 1-4, 8, 11, 15 page 8, line 11 - line 13 page 8, line 23 - line 24 -----	1-16
A	WO 99 25374 A (ADIR ET COMPAGNIE) 27 May 1999 (1999-05-27) claims -----	12

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## ° Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

Date of mailing of the International search report

6 November 2003

14/11/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Scarpioni, U

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/01931

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9856355	A	17-12-1998	DE AU AU CN WO EP HU JP NO NZ PL SK TR US ZA	19724696 A1 736357 B2 8336898 A 1260714 T 9856355 A1 0994696 A1 0002719 A2 2002504108 T 996049 A 501726 A 337279 A1 169999 A3 9903069 T2 6267990 B1 9805142 A	24-12-1998 26-07-2001 30-12-1998 19-07-2000 17-12-1998 26-04-2000 28-12-2000 05-02-2002 07-02-2000 28-09-2001 14-08-2000 11-07-2000 22-05-2000 31-07-2001 12-01-2000
GB 2352172	A	24-01-2001	NONE		
WO 9925374	A	27-05-1999	FR AT AU AU BR CA CN DE DK EA EP WO HU JP NO NZ PL ZA	2771010 A1 239500 T 740748 B2 6837798 A 9814885 A 2310136 A1 1279615 T 69814444 D1 1032414 T3 2968 B1 1032414 A1 9925374 A1 0004544 A2 2001523646 T 20002479 A 504220 A 340561 A1 9806673 A	21-05-1999 15-05-2003 15-11-2001 07-06-1999 03-10-2000 27-05-1999 10-01-2001 12-06-2003 01-09-2003 26-12-2002 06-09-2000 27-05-1999 28-06-2001 27-11-2001 12-05-2000 30-05-2003 12-02-2001 04-02-1999

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 03/01931

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 A61K9/50 A61K31/40 A61K31/401 A61K38/55

Selon la classification Internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche Internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 98 56355 A (HEXAL) 17 décembre 1998 (1998-12-17) revendications exemples ---	1-3, 6, 8, 13-16
A	GB 2 352 172 A (WEST) 24 janvier 2001 (2001-01-24) revendications 1-4, 8, 11, 15 page 8, ligne 11 - ligne 13 page 8, ligne 23 - ligne 24 ---	1-16
A	WO 99 25374 A (ADIR ET COMPAGNIE) 27 mai 1999 (1999-05-27) revendications ---	12

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

\*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

\*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

\*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

\*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

6 novembre 2003

14/11/2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Scarpioni, U

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 03/01931

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 9856355	A	17-12-1998	DE 19724696 A1 AU 736357 B2 AU 8336898 A CN 1260714 T WO 9856355 A1 EP 0994696 A1 HU 0002719 A2 JP 2002504108 T NO 996049 A NZ 501726 A PL 337279 A1 SK 169999 A3 TR 9903069 T2 US 6267990 B1 ZA 9805142 A		24-12-1998 26-07-2001 30-12-1998 19-07-2000 17-12-1998 26-04-2000 28-12-2000 05-02-2002 07-02-2000 28-09-2001 14-08-2000 11-07-2000 22-05-2000 31-07-2001 12-01-2000
GB 2352172	A	24-01-2001	AUCUN		
WO 9925374	A	27-05-1999	FR 2771010 A1 AT 239500 T AU 740748 B2 AU 6837798 A BR 9814885 A CA 2310136 A1 CN 1279615 T DE 69814444 D1 DK 1032414 T3 EA 2968 B1 EP 1032414 A1 WO 9925374 A1 HU 0004544 A2 JP 2001523646 T NO 20002479 A NZ 504220 A PL 340561 A1 ZA 9806673 A		21-05-1999 15-05-2003 15-11-2001 07-06-1999 03-10-2000 27-05-1999 10-01-2001 12-06-2003 01-09-2003 26-12-2002 06-09-2000 27-05-1999 28-06-2001 27-11-2001 12-05-2000 30-05-2003 12-02-2001 04-02-1999